

令和元年6月26日現在

機関番号：32684

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18867

研究課題名(和文) 低波数ラマン分光法による錠剤中原薬の結晶化の定量的評価法の開発

研究課題名(英文) Development of quantification methods for crystalline polymorphs in pharmaceutical dosage form using low-frequency Raman spectroscopy

研究代表者

井上 元基 (Inoue, Motoki)

明治薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：90722950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では結晶多形に特異的なスペクトルが得られる低波数領域ラマン分光法を用いて、錠剤中に含まれる原薬結晶多形の定量を目的とした。そのため、従来の後方散乱型と比較して定量性が高いことが知られる透過型へと改良し、これまで測定されていない透過低波数ラマンスペクトルを取得した。カルバマゼピンI形およびIII形をモデルの結晶多形とし、それらを所定比混合した錠剤を測定サンプルとした。実際の含量と部分最小二乗法(PLS)により求めた予測含量との関係を検量線としたところ、開発した透過法はRMSECV=3.9であり拡散反射法(RMSECV=4.9)よりも誤差が小さく、定量性に優れていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では錠剤中原薬の結晶多形の定量を目的とし透過型低波数ラマン分光法を開発した。本手法は、低波数領域のラマンスペクトルを使用するため、これまで結晶形の把握に汎用されてきた通常領域ラマンスペクトルよりも識別が容易であること、後方散乱測定を透過測定とすることで、定量性を向上させることに成功した。本手法を活用した製品も発売されることから社会的な意義は大きかったものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to quantify polymorphs of active pharmaceutical ingredients in pharmaceutical tablets using low-frequency Raman spectroscopy. Low-frequency Raman spectroscopy can discriminate crystal polymorphs. It is well known that the quantification ability of transmission mode is high than that of backscattering mode. We therefore developed transmission low-frequency Raman spectroscopy and obtained novel transmission low-frequency Raman spectra. Carbamazepine form I and III were selected as model polymorphs, and prepared mixture of polymorphs as model tablets. The root-mean-square error of cross-validation (RMSECV) of the transmission mode was 3.9 compared to 4.9 for the backscattering mode. These findings indicate that transmission mode is superior to quantify crystallinity of an API in the pharmaceutical tablet.

研究分野：製剤学

キーワード：Raman分光法 結晶多形 固形製剤

## 1. 研究開始当初の背景

医薬品原薬の結晶多形は溶解性・安定性・吸収性といった物理化学的性質に影響することが知られている。そのため、医薬品申請時に原薬の結晶形に関する情報の提供が必要とされる。原薬結晶形の特許係争も頻発している。このような背景から、製薬企業においても原薬の結晶形のみならず、最終製品の結晶形把握の必要性が生じてきた。これまで、原薬の結晶状態の把握には、粉末 X 線回折法(PXRD)や固体 NMR 法が用いられてきた。しかし、PXRD では定量性が低いこと、固体 NMR では長時間を要するといった課題がある。研究開始当初、THz 領域スペクトル分光法によるケミカルイメージングも報告されたが、測定条件の観点から実際に使用される製剤の分析は行われていない。ラマン分光法の通常領域(200-2000  $\text{cm}^{-1}$ )では官能基に由来したピークが現れるため、赤外分光法の相補的な分光法として使用されてきた。結晶多形によってはピークシフトがみられるものの、化合物の種類によっては結晶多形間の識別は困難なことも多かった。研究開始当初、励起光周辺の波長を特異的に除去できるノッチフィルターが開発され、低波数領域(10-200  $\text{cm}^{-1}$ )のスペクトルの取得が可能となった。低波数領域は化合物の分子間振動や骨格振動など分子の全体的な振動に由来した情報が得られ、結晶多形の識別ができることと報告されつつあった。

## 2. 研究の目的

前述の製剤業界における背景から錠剤中原薬の結晶多形の簡便な可視化ならびに定量法の開発は急務であると考えた。本研究では当初汎用装置になりつつあった低波数領域ラマン分光器を用いて、錠剤中原薬定量を目的とした新規の評価法の開発を目的とした。一般的なラマン分光法では励起光を化合物に照射し、反射される後方散乱スペクトルの取得が行われる。この方法では錠剤表面のスペクトルを取得しているに過ぎず、錠剤表面の多くの点についてスペクトルを取得し、そのスペクトルの平均化が必要である。しかし、多くの製品の表面には凹凸があり、レーザーの焦点を変える必要があるため、実際の製品に対する使用は難しい。これまでに、レーザー照射面と反対側に検出器を設置した透過ラマン分光法が開発されており、錠剤内部の情報を反映するため、定量性が高いことが報告されている。本研究では錠剤中原薬の結晶多形の定量を目的とし透過型低波数ラマン分光法を開発した。

## 3. 研究の方法

市販されている測定プローブを組み合わせ、1 つを励起光照射部とし、もう一方を検出部とした透過型ユニットを試作した。試作した透過型ユニットの最適化は結晶多形を含む錠剤を用いて行い、励起光照射部と受光部との距離、レーザー強等の諸条件を最適化することで行う。試作品を元に受光部を改良し、新規透過型ユニットとした。測定サンプルには結晶多形を示すカルバマゼピンを用い、I 形と III 形の混合比を変えた錠剤を調製した。部分最小二乗 (PLS) 解析を行い、求めた含量と実際の含量との検量線を作成し、その測定誤差を評価した。透過型測定と後方散乱型測定との定量性の比較を行った。

## 4. 研究成果

はじめに透過と反射の低波数ラマンスペクトルの比較のために、カルバマゼピン I 形と III 形について測定した(図 1)。いずれのラマン強度も後方散乱のほうが透過型より高かった。

測定に最適な錠剤厚さの影響を検討するため、7 水準の質量の III 形を用いて異なる厚さの錠剤を調製し、反射と透過でスペクトルを取得した。得られた透過および反射スペクトルの 39  $\text{cm}^{-1}$  におけるピーク強度を図 2 にプロットした。反射モードにおいて、錠剤厚さの増加に伴いラマン強度は増加し、1.7 mm 以降ほぼ一定値を示した。

一方、透過においては 1.2 mm で最大値を示し、それよりも錠剤厚さが増加すると再び低下することがわかった。したがって、レーザーに暴露される化合物の量と検出器に届くラマン散乱はトレードオフの関係にあるといえ、低波数透過ラマンスペクトルにおいても最適な錠剤厚さがあることがわかった。

カルバマゼピン III 形を 1-75%、D-マンニトール 10%、残りを結晶セルロースとした全量 100 mg の錠剤を調製し、後方散乱と透過測定を行った。PLS により算出した予測値と実際の含量との関係を図 3 に示す。Root mean square error of cross validation (RMSECV)により透過と後方散乱の結果を比較すると、透過は 3.9、後方散乱は 4.9 であった。したがって透過型

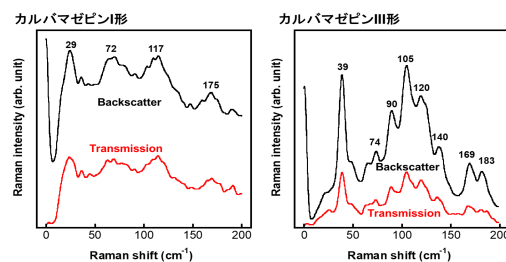


図 1 カルバマゼピン I 形と III 形の透過および後方散乱スペクトル

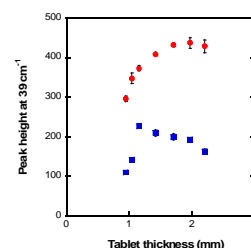


図 2 透過および反射スペクトルの 39  $\text{cm}^{-1}$  におけるピーク強度

とすることで 20% 定量性を向上させることができるため、透過低波数ラマン測定は錠剤中結晶多形の定量に有用な手法であることが明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

M. Inoue, H. Hisada, T. Koide, J. Carriere, R. Heyler, T. Fukami, *In situ* monitoring of crystalline transformation of carbamazepine using probe type low frequency Raman spectroscopy, *Org. Process Res. Dev.*, **21**: 262-265. 2017.

M. Inoue, H. Hisada, T. Koide, J. Carriere, R. Heyler, T. Fukami, Real-time formation monitoring of cocrystals with different stoichiometries using probe-type low-frequency Raman spectroscopy, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **56**: 12693-13697. 2017.

M. Inoue, H. Hisada, T. Koide, T. Fukami, A. Roy, J. Carriere, R. Heyler, Transmission low-frequency Raman spectroscopy for quantification of crystalline polymorphs in pharmaceutical tablets, *Anal. Chem.*, **91**: 1997-2003. 2019.

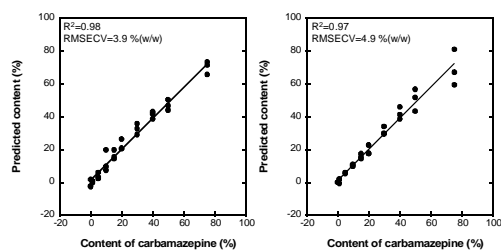


図 3 PLS により算出した予測値と実際の含量との関係

〔学会発表〕(計 10 件)

M. Inoue, H. Hisada, T. Koide, T. Fukami, Real-time monitoring of crystalline compounds using in situ low frequency Raman probe SCIX2016 (招待講演) (国際学会) 2016 年

井上元基、落合陸夫、久田浩史、小出達夫、深水啓朗、低波数ラマン分光法を用いたシクロデキストリン包接複合体の分析、日本薬学会第 137 年会 2017 年

井上元基、久田浩史、小出達夫、深水啓朗、プローブ型低波数ラマン分光器によるコクリスタル形成のモニタリング、日本薬剤学会第 32 年会、2017 年

M. Inoue, H. Hisada, T. Koide, J. Carriere, R. Heyler, T. Fukami, In situ Crystallization monitoring using probe type low frequency Raman spectroscopy, 6th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2017 (国際学会) 2017 年

M. Inoue, H. Hisada, T. Koide, J. Carriere, R. Heyler, T. Fukami, Evaluation of Carbamazepine Polymorphs in Solid Dosage Forms Using Low-Frequency Raman Spectroscopy 2017 AAPS Annual Meeting (国際学会) 2017 年

井上元基、結晶品質の分析で活用する Raman 分光測定の先端技：Raman 測定で知る結晶品質と最先端分析技術、第 12 回晶析操作の基礎と実践 (招待講演) 2018 年

井上元基、大西 優、久田浩史、小出達夫、深水啓朗、透過低波数ラマン分光法による結晶多形の定量、日本薬剤学会第 33 年会、2018 年

長田拓美、竹内勇輝、井上元基、久田浩史、大西優、小出達夫、深水啓朗、透過型低波数ラマン分光法を用いた医薬品錠剤中共結晶の定量、第 62 回日本薬学会関東支部大会、2018 年

長田拓美、竹内勇輝、井上元基、久田浩史、小出達夫、深水啓朗、透過および反射低波数ラマン分光法を用いた錠剤中共結晶の定量性比較、日本薬学会第 139 年会、2019 年

M. Inoue, H. Hisada, T. Koide, T. Fukami, A. Roy, J. Carriere, R. Heyler, Quantification of polymorphs in pharmaceutical tablets using transmission low-frequency Raman spectroscopy, 3rd European Conference on Pharmaceutics (国際学会) 2019 年

〔図書〕(計 1 件)

井上元基 『医薬品原薬の結晶化と物性評価：その最先端技術と評価の実際』、監修：川上巨作、第 12 章低波数ラマン分光法による結晶形評価、pp146-157、シーエムシー出版、東京、2019

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://u-lab.my-pharm.ac.jp/~molpharm/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。